

Nowe rozwiązania technologiczne w aspekcie miejscowego i doustnego podania resweratrolu

Anna Górską, Krzysztof Niwiński, Renata Jachowicz

ORCID: Anna Górską (ORCID iD: 0000-0003-1462-2217)

Krzysztof Niwiński (ORCID iD: 0000-0001-7702-9790)

Renata Jachowicz (ORCID iD: 0000-0001-7623-2578)

Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji Wydział Farmaceutyczny Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Adres do korespondencji: Anna Górską, Katedra Technologii Postaci Leku i Biofarmacji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, e-mail: an.gorska@uj.edu.pl

Charakterystyka resweratrolu

Resweratrol (3,4',5- trihydroksystilben) jest polifenolem pochodzenia roślinnego o budowie stilbenu. Należy więc do grupy związków będących roślinnymi metabolitami wtórnymi, o właściwościach obronnych przed destrukcyjnym wpływem czynników zewnętrznych [1]. Spośród wszystkich stilbenoidów, najwięcej doniesień dotyczy właśnie resweratrolu, który jako substancja o wielokierunkowym działaniu na organizm człowieka, stał się w ostatnich latach obiektem intensywnych badań. W zakresie prowadzonych prac przede wszystkim charakteryzujących potencjał terapeutyczny nieprocesowanego resweratrolu, pojawiają się również badania ukierunkowane na projektowanie innowacyjnych postaci leku. Opracowywane są nowe formułacje zarówno pod kątem doustnego, jak i miejscowego podania.

W środowisku naturalnym resweratrol występuje w postaci dwóch form izomerycznych *cis*- oraz *trans*-, przy czym izomer *trans*- jest dominującą formą resweratrolu w surowcach naturalnych i charakteryzuje się wyższą aktywnością biologiczną od formy *cis*-. Po raz pierwszy resweratrol został wyizolowany w 1940 r., przez Takaokę [2], z korzenia ciemnicy wielokwiatowej (*Veratrum grandiflorum*), który w tradycyjnej medycynie chińskiej znajduje zastosowanie w leczeniu bólu głowy, biegunki oraz żółtaczki [1]. Obecnie pozyskiwany jest głównie z rdestowca ostrokończyściego (*Polygonum cuspidatum*), w którym występuje w wysokim stężeniu (296–377 µg/g). Stosunkowo nową drogą pozyskiwania resweratrolu jest

zastosowanie metod biotechnologicznych z udziałem szczepów drożdży należących do gatunku *Saccharomyces cerevisiae* lub *Pichia pastoris*. Po raz pierwszy metoda ta została opisana w 2003 r. [3], kiedy to uzyskano resweratrol na drodze fermentacji drożdży winiarskich modyfikowanych genetycznie. Prace te są nadal kontynuowane pod kątem zapewnienia wydajniejszego pozyskiwania resweratrolu o odpowiedniej czystości [4, 5].

Resweratrol jest dostępny jako suplement diety produkowany w postaci tabletek, kapsulek, kropli podjęzykowych, proszków do sporządzania zawiesin, preparatów liposomalnych zawierających także inne substancje czynne, takie jak: witaminy, koenzym Q10, kwas foliowy, kwasy omega-3, luteina, zeaksantyna. Wskazaniem do stosowania jest uzupełnienie codziennej diety w substancje antyoksydacyjne, zapobieganie procesom przedwczesnego starzenia organizmu, a także wspomaganie leczenia chorób układu sercowo-naczyniowego.

Podanie miejscowe resweratrolu ogranicza się natomiast do zastosowań w preparatach kosmetycznych, do których wprowadzany jest w postaci czystego proszku, a także jako składnik ekstraktu z winogron wg. INCI (ang. *International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*) *Vitis Vinifera* (Grape) Vine Extract, *Vitis Vinifera* (Grape) Leaf Extract lub jako substancja wytwarzana na drodze biosyntezy przez genetycznie zmodyfikowane szczepy drożdży *Pichia pastoris* (INCI: *Pichia/Resveratrol Ferment Extract*). Resweratrol stosowany jest w preparatach kosmetycznych, tj. w kremach i serum, przede wszystkim jako substancja czynna o działaniu przeciworodnikowym i przeciwutleniającym,

New technological solutions in the aspect of topical and oral administration of resveratrol

Resveratrol (3,5,4-trihydroxystilbene) is a natural polyphenolic compound with a wide spectrum of biological activities, which could possibly be useful in the prevention or treatment of cardiovascular, neurodegenerative diseases, cancer, as well as premature skin aging. The extraction and synthesis methods have been developed rapidly for resveratrol. It is isolated mainly from *Polygonum cuspidatum* due to its high concentration in this herb. However, rapid development of biotechnology led to a new way of resveratrol synthesis directly in recombinant yeast, but also in bacteria, such as *Escherichia coli*. Currently, resveratrol is used as a dietary supplement in form of tablets, capsules or sublingual drops. Nonetheless, resveratrol application is still being a major challenge due to its poor solubility in water as well as low and erratic bioavailability. However, the latest studies showed the possibility of extending the therapeutic range of resveratrol utility, including its potential as a wound care agent. The systems designed for application to the skin are particularly promising, although the formulations proposal for oral administration are also interesting. Despite its potential as a compound administered topically, nowadays resveratrol is available only as an anti-aging ingredient in skin care products. As a substance with the pleiotropic mode of action, it has become the object of interest of many research groups as well as the pharmaceutical industry. Most studies have tended to focus on pharmacological activity of raw resveratrol and its poor bioavailability, thus the number of research concerning the development of a drug delivery system for resveratrol is very limited.

The present review summarizes the most recent literature which demonstrates the currently used technologies allowing to overcome poor bioavailability of resveratrol, with particular emphasis put on its topical and oral administration. The article shows the current state of knowledge on delivery systems with resveratrol such as liposomes, nanoemulsions, lipid nanoparticles and nanocrystals. It presents also an overview of recent developments in the use of resveratrol in the prevention and treatment of different skin diseases.

Keywords: resveratrol, polyphenols, drug carriers, wound healing, topical application.

© Farm Pol, 2019, 75 (11): 599–604

do których wprowadzany jest zazwyczaj w stężeniu od 1 do 3% [6, 7].

Możliwość zastosowania resweratrolu w celach terapeutycznych ograniczają jego właściwości fizykochemiczne oraz farmakokinetyczne. Jest to substancja wrażliwa na działanie światła, trudno rozpuszczalna w wodzie ($\sim 50 \mu\text{g/ml}$), o współczynniku podziału n-oktanol/woda $\log P = 3,14$ i biologicznym okresie półtrwania $t_{0,5} = 8-14$ min. Po podaniu doustnym wchłania się szybko w około 75% w świetle jelita cienkiego, na drodze dyfuzji biernej. Szybko też jest metabolizowany w wątrobie, co tłumaczy jego niską dostępność biologiczną (1–2%). Opublikowane badania wykazały konieczność osiągnięcia w osoczu stężenia powyżej 1150 ng/ml w celu uzyskania przeciwnowotworowego działania

resweratrolu [8]. Z danych z piśmiennictwa wynika, że podanie resweratrolu w dawce nawet 500 mg jest niewystarczające do osiągnięcia w osoczu stężenia koniecznego do wywołania efektu chemoprewnicyjnego [9, 10].

Kierunki rozwoju form leku z resweratrole

W ostatnich latach zainteresowania badawcze ukierunkowane są na opracowywaniu nowych form leku zapewniających poprawę stabilności oraz zwiększenie dostępności farmaceutycznej i biologicznej resweratrolu. Przedmiotem szczególnego zainteresowania są układy wielokompartmentowe, m.in. liposomy, mikrosfery, nanocząstki lipidowe, nanokryształy, nanoemulsje (tabela 1).

Wytworzenie nanoemulsji z resweratrole miało na celu poprawę dostępności farmaceutycznej po podaniu doustnym. Emulsję pierwotną resweratrolu (0,01%) sporządzono metodą homogenizacji szybkoobrotowej, z użyciem oleju arachidowego, wody oraz emulgatorów hydro- i lipofilowych. Emulsję poddawano dziesięciokrotnej homogenizacji wysokociśnieniowej, przy ciśnieniu 300 MPa, w celu zmniejszenia rozmiarów cząstek fazy rozproszonej i wytworzenia nanoemulsji. Zmniejszenie rozmiaru kropli fazy rozproszonej do 130–235 nm było możliwe dzięki złożonemu mechanizmowi homogenizacji wysokociśnieniowej, obejmującego działanie sił ścinających, zjawiska kawitacji i uderzenia z wysoką energią [11].

Sporządzenie stałych nanocząstek lipidowych (SLN) oraz nanostrukturalnych nośników lipidowych (NLC) z resweratrole oparte było również na wytworzeniu nanoemulsji o zawartości substancji czynnej odpowiednio: 0,33%, 0,83%, 1,65% oraz 2,48% [12]. Palmitynian cetylu, polisorbata 60 jako stabilizator oraz resweratrol stopiono w temperaturze 70°C, tj. powyżej punktu topnienia lipidów, a następnie rozproszone w wodzie o tej samej temperaturze. W przypadku nanostrukturalnych nośników lipidowych w skład emulsji wchodził dodatkowo Miglyol®-812. Emulsję homogenizowano z użyciem homogenizatora szybkoobrotowego, po czym poddawano działaniu ultradźwięków. Otrzymywano mleczną nanoemulsję, której schłodzenie w temperaturze pokojowej powodowało krystalizację lipidów i formowanie zawiesiny nanocząstek o wielkości 150–250 nm. Uzyskano jednorodne nanoformulacje o gładkiej powierzchni, zachowujące stały stan skupienia w temperaturze ciała ludzkiego. W oparciu o wyniki badań DSC i potencjału zeta wykazano zadowalającą stabilność obu rodzajów formulacji. W badaniach szybkości rozpuszczania stwierdzono nieznaczne różnice w profilach rozpuszczania. Zwrócono uwagę, że w przypadku

Tabela 1. Przykłady mikro i nanonośników resweratrolu.

Table 1. The examples of resveratrol micro- and nanocarriers.

Typ nośnika	Typ badania	Wyniki	Piśm.
Nanoemulsje	<i>in vitro</i>	Przedłużone uwalnianie: po 24 h 80% i 60% zależnie od formulacji. Zwiększenie rozpuszczalności i stabilności.	[11]
Stałe lipidowe nanocząstki (SLN) oraz nanostrukturalne nośniki lipidowe (NLC)	<i>in vitro</i>	Przedłużone uwalnianie: po 10 h, odpowiednio około 10% dla SLN i około 6% dla NLC. Zwiększenie stabilności.	[12]
Mikrosfery	<i>in vitro</i>	Zwiększenie stabilności.	[13]
Nanosfery lipidowe lub liposomy	<i>in vitro</i>	Zwiększenie rozpuszczalności i stabilności. Przedłużone uwalnianie: po 10 h, odpowiednio około 40% dla liposomów oraz około 30% dla nanosfer lipidowych.	[14]
Nanokryształy	<i>in vitro</i> <i>in vivo</i> na szczurach	Zwiększenie rozpuszczalności i stabilności. Zwiększenie absorpcji i wychwytu przez barierę jelitową. Zwiększenie wartości parametrów AUC oraz C_{max} .	[15]
Roztwory micelarne	<i>in vitro</i> <i>in vivo</i> – na 12 zdrowych ochotnikach	Zwiększenie przepuszczalności przez błonę komórkową. Zwiększenie wartości parametrów AUC oraz C_{max} . Skrócenie t_{max} .	[16]

NLC, dzięki dodatkowi płynnego lipidu, mniej uporządkowana struktura ich matrycy, w porównaniu do SLN, powoduje zwiększenie trwałości układu i minimalizację ubytku substancji czynnej w trakcie przechowywania. Ponadto, przypuszcza się, że obecność resweratrolu może dodatkowo zwiększać nieuporządkowanie struktury i stabilność nanoformulacji.

Przedmiotem badań były także chitozanowe mikrosfery z resweratrolem o składzie chitozan, parafina, Span 80, Tween 80 sporządzane metodą emulsyjną przy użyciu waniliny jako czynnika sieciującego [13]. Zamknięcie resweratrolu w postaci mikrosfer o średnicy od ok. 50 do ok. 300 μm zapewniło zwiększenie foto- i termostabilności substancji czynnej.

Nieco inne połączenie procesów technologicznych, uwzględniające suszenie i następującą po nim hydratację, zastosowano w celu sporządzenia nanosfer lipidowych oraz liposomów z resweratrolem, opracowanych pod kątem potencjalnego zastosowania w leczeniu otyłości [14]. Nanosfery zawierające oprócz resweratrolu lecytynę, niejonowy emulgator, tj. Kolliphor®HS15, oraz octan tokoferolu wytwarzano poprzez rozpuszczenie składników w etanolu, odparowywanie rozpuszczalnika w atmosferze azotu, a następnie rozpraszanie w wodzie o temp. 76°C i poddanie homogenizacji ultradźwiękowej. Preparat szybko schładzano oraz poddawano ultrafiltracji celem usunięcia niezwiązanego resweratrolu. Z kolei liposomy z resweratrolem uzyskano poprzez wytworzenie filmu lipidowego z fosfatydylocholinoi sojowej i cholesterolu. W celu ujednolicenia rozmiarów liposomów, zastosowano metodę ekstruzji przy użyciu filtra membranowego. Nanosfery i liposomy o wielkości odpowiednio 140 nm i 110 nm, charakteryzowały się zwiększoną zawartością resweratrolu i stabilnością chemiczną, przy czym oceniając oba nośniki

stwierdzono, że zamknięcie resweratrolu w liposomach zapewnia większą stabilność w porównaniu do nanosfer lipidowych.

W celu poprawy rozpuszczalności w wodzie i stabilności podczas przechowywania, wytworzono nanokryształy resweratrolu [15]. Resweratrol rozpraszano w wodnym roztworze bursztynianu glikolu polietylenowego 1000 D-alfa tokoferolu z dodatkiem lecytyny, Pluronic®F-127, a następnie homogenizowano z użyciem homogenizatora szybkoobrotowego. Jednorodną mieszaninę poddawano homogenizacji ultradźwiękowej w kąpeli lodowej, po czym liofilizowano z 5% roztworem mannitolu jako krioprotektantem. W zależności od składu jakościowego i ilościowego uzyskiwano produkt w formie podłużnych nanokryształów o rozmiarach w zakresie od 100 nm do 600 nm, zawierających powyżej 90% resweratrolu. Po 5 h ilość rozpuszczonej substancji czynnej była 2-krotnie większa niż z nieprocesowanego resweratrolu.

Spośród postaci leku do miejscowego podania resweratrolu przedmiotem badań były płynne oraz półstałe formy, tj. roztwory, maści, kremy i żele o właściwościach reologicznych zapewniających odpowiednią rozsmarowywalność na skórze. Podanie resweratrolu na skórę może wywierać pozytywny wpływ na poprawę wyglądu skóry oraz niwelować zmiany chorobowe w jej obrębie. Wykazano, że resweratrol może pełnić rolę inhibitora tyrozynazy, tym samym pełnić funkcję czynnika hipopigmentacyjnego, pomocnego w likwidowaniu nieprawidłowej pigmentacji skóry, o silniejszym działaniu niż stosowane dotychczas hydrochinon, kwas askorbinowy czy arbutyna [17]. W doświadczeniach *in vivo* po miejscowym podaniu roztworu resweratrolu, wykazano przeciwzapalne działanie oraz wpływ chemoprewencyjny na uszkodzenia skóry myszy wywołane ekspozycją na promieniowanie UV-B. Także w badaniach *in vivo* po aplikacji

Tabela 2. Przykłady opracowywanych postaci leku z resweratrolu do podania miejscowego.

Table 2. The examples of topical dosage forms with resveratrol being developed.

Postać leku	Substancje pomocnicze	Typ badania	Wyniki	Piśm.
Roztwór	aceton aceton lub dimetylosulfotlenek	<i>in vivo</i> na myszach	Wpływ chemoprewencyjny na uszkodzenia wywołane ekspozycją na promieniowanie UV-B. Mechanizm: apoptotyczna eliminacja uszkodzonych komórek poprzez hamowanie ekspresji białek surwiwiny. Działanie przeciwzapalne i przeciwsłoneczne w atopowym zapaleniu skóry (AZS). Mechanizm: Hamowanie ekspresji interleukiny 31 (IL-31).	[23, 20]
Liposomy	lecytyna, cholesterol, fosforan dicetylu	<i>in vitro</i> na ludzkich embrionalnych komórkach nerki	Wzmocnienie ochronnego działania resweratrolu przed promieniowaniem UV-B.	[22]
Nanozawiesina	Tween 80, Poloxamer 188, Plantacare 2000 oraz Inutec SP1	badania fizykochemiczne	Wielkość cząstek około 150–220 nm. Zwiększenie stabilności.	[21]
Hydrożel	pochodne celulozy (Na-CMC)	<i>in vivo</i> – 20 chorych na trądzik pospolity	Aktywność przeciwtrądzikowa, redukcja zmian zapalnych. Mechanizm: wpływ na proliferację keratynocytów, hamowanie rogowacenia ujędrnienia gruczołów łojowych, hamowanie wzrostu bakterii z rodzaju <i>Propionibacterium acnes</i> , działanie immunomodulujące.	[19]
Krem hydrofilowy	glikol polietylenowy	<i>in vivo</i> na myszach	Aktywność przeciwko wirusom opryszczki. Mechanizm: hamowanie replikacji wirusa HSV-1 we wczesnej fazie zakażenia	[18]
Maść hydrofobowa	mieszanina wosku pszczego, parafiny i alkoholu cetostearylowego	<i>in vivo</i> na szczurach	Wspomaganie procesu gojenia. Mechanizm: pobudzenie procesu reepitelizacji oraz syntezy włókien kolagenowych	[28]
Polimerowe membrany	kolagen, laminina, chitozan	<i>in vitro</i> oraz <i>in vivo</i> na szczurach		[26, 27]

kremu z resweratrolu na skórę myszy zakażonej wirusem opryszczki pospolitej typu 1 (HSV-1, *Herpes simplex virus*), stwierdzono jego aktywność przeciwko tym wirusom we wczesnej fazie zakażenia [18]. Skuteczność działania była porównywalna z acyklowirem oraz większa niż w przypadku użycia dokozanolu. Fabbrocini i wsp. [19] ocenili właściwości hydrożelu z resweratrolu (~0,001%), zawierającego w składzie sól sodową karboksymetylocelulozy oraz glicerol. W badaniach na ludziach wykazano, że po miesięcznej terapii stosowania preparatu raz dziennie nastąpiło złagodzenie objawów trądziku pospolitego, tj. zmniejszenie stanu zapalnego oraz zmniejszenie występowania wykwitów grudkowo-krostkowych średnio o 53%. Stwierdzono również wpływ resweratrolu w łagodzeniu objawów atopowego zapalenia skóry (ang. *atopic dermatitis*, AZS), w oparciu o badania aktywności biologicznej ekstraktu z genetycznie zmodyfikowanego ryżu wzbogaconego o resweratrol (2,5%) [20]. Sproszkowany ryż poddawano ultradźwiękowej ekstrakcji rozpuszczalnikami metanolowo-wodnym, filtrowano, a następnie zagęszczano w wyparce rotacyjnej i liofilizowano. Wskazano, że otrzymany ekstrakt aplikowany na skórę myszy w postaci roztworu hamuje ekspresję interleukiny 31 (IL-31), tym samym zmniejszając nasilenie procesu zapalnego i świądu skóry. Kobierski i wsp. [21] opracowali wodną nanozawiesinę zawierającą resweratrol w stężeniu 5% oraz substancję obniżającą napięcie powierzchniowe, tj. odpowiednio: Tween 80, Poloksamer 188, Plantacare® 2000, Inutec®SP1 w stężeniu 1% lub 2% pod

kątem potencjalnego zastosowania na skórę. Nanozawiesinę sporządzono dwuetapowo. Po rozpuszczeniu surfaktantu w wodzie, resweratrol rozpraszano przy użyciu homogenizatora Ultra-Turrax®, a następnie przepuszczano przez dyszę homogenizatora wysokociśnieniowego pod ciśnieniem, odpowiednio 300 barów (2 cykle), 500 barów (2 cykle), 1000 barów (1 cykl), we wstępnej fazie procesu, następnie pod ciśnieniem 1500 barów dla kolejnych 30 cykli. W wyniku oddziaływania bardzo dużych sił ścinających, uzyskano cząstki o rozmiarach od 150 nm do 220 nm. Z kolei Caddeo i wsp. [22] analizowali wpływ zamknięcia resweratrolu w liposomach na wzmocnienie jego właściwości fotoochronnych. Oceny oddziaływania resweratrolu na przeżycie komórek linii HEK 293 (ang. *Human Embryonic Kidney* 293) po naświetlaniu promieniowaniem UV-B dokonano na podstawie testu żywotności komórek MTS. Sporządzono 8 formuacji liposomów z resweratrolu, cholesterolem, dipalmitoylofosfatydylocholiną, metodą hydratacji filmu lipidowego, które celem ujednolicenia rozmiarów i uzyskania liposomów jednowarstwowych poddawano trójetapowej obróbce: 8 cykli zamrażania-rozmrażania w ciekłym azocie i łaźni wodnej o temp. 50°C, 5 cykli homogenizacji ultradźwiękowej, 27-krotne przetłaczanie przez poliwęglanową membranę o średnicy porów 100 nm. W rezultacie, w zależności od składu formuacji liposomy miały rozmiary w zakresie od 110 do 360 nm. Porównując wyniki uzyskane dla nieprocesowanego resweratrolu, pustych liposomów oraz liposomów zawierających resweratrol, stwierdzono, że po

24 h inkubacji, w teście MTS największą przeżywalność komórek gwarantowało zastosowanie liposomów z resweratolem. Wykazano, że dzięki takiemu rozwiązaniu zwiększa się skuteczność resweratrolu w zapobieganiu i leczeniu uszkodzeń skóry związanej z nadmierną ekspozycją na promieniowanie UV.

Materiały opatrunkowe

Innym kierunkiem badań jest rozwój technologii sporządzania nowoczesnych materiałów opatrunkowych, z uwagi na stwierdzony wpływ resweratrolu na proces gojenia ran. Obok właściwości przeciwzapalnych, o potencjalnej użyteczności resweratrolu w leczeniu ran świadczy również wpływ na proliferację fibroblastów oraz zdolność regulacji ekspresji białkowego czynnika wzrostu śródbłonna naczyń, odpowiedzialnego za inicjację tworzenia tkanki ziarninowej i angiogenezę [24, 25]. Gokce i wsp. [26] inkorporowali mikrocząstki resweratrolu do matrycy złożonej z kolagenu i lamininy, będących naturalnymi składnikami macierzy pozakomórkowej. Proces technologiczny był kilkietapowy. Obejmował sporządzenie mikrocząstek metodą suszenia rozpyłowego oraz porowatych matryc metodą suszenia sublimacyjnego. Mikrocząstki zawierające 0,5% lub 1% resweratrolu otrzymano przez rozproszenie mieszaniny etanolowego roztworu dipalmitoilofosfatydylocholine i resweratrolu oraz wodnego roztworu kwasu hialuronowego w suszarce rozpyłowej Büchi B-290 Mini wyposażonej w dysze o średnicy 0,7 mm. Z kolei matryce sporządzono poprzez liofilizację uprzednio przygotowanej mieszaniny roztworu kolagenu w kwasie octowym oraz lamininy w roztworze chlorku sodu. Liofilizaty sieciowano promieniowaniem UV o długości fali $\lambda=254$ nm. Na gotowe matryce w komorze laminarnej napyłano mikrocząstki. W badaniach *in vitro* oraz *in vivo* stwierdzono, że opracowana w ten sposób membrana może stanowić bezpieczny i skuteczny materiał do leczenia przewlekłych ran cukrzycowych, łącząc synergistyczne działanie składników matrycy i mikrocząstek z resweratolem. Polimerowe membrany uzyskano także poprzez liofilizację hydrożelu chitozanowego z dodatkiem hialuronianu sodu. Żel mieszano z etanolem roztworem resweratrolu przy użyciu homogenizatora, a po rozlaniu do blistrów liofilizowano. W badaniach *in vivo* [27] wykazano skuteczność resweratrolu we wspomaganiu gojenia ran po jego aplikacji na skórę myszy. Po 10 dniach zaobserwowano zmniejszenie obszaru rany, której początkowa wielkość wynosiła 10 mm² do wartości $2,76 \pm 0,43$ mm² (n=10), podczas gdy w grupie kontrolnej powierzchnia rany wynosiła $6,08 \pm 0,39$ mm² (n=10). Korzystny wpływ resweratrolu w leczeniu ran wykazano

także na przykładzie aplikacji maści hydrofobowej zawierającej resweratrol w ilości 0,5%, której podłoże stanowiła mieszanina wosków i alkoholu cetostearylowego. W przeprowadzonych badaniach na szczurach stwierdzono przyspieszenie procesu reepitelializacji oraz pobudzenie syntezy włókien kolagenowych. Po 3 tygodniach odnotowano zwiększenie ekspresji cytokeratyn średnio o 19%, zwiększenie grubości naskórka o około 38% oraz wzrost gęstości włókien kolagenowych średnio o 40% w porównaniu z grupą kontrolną [28].

Również w ramach prac własnych opracowano materiał opatrunkowy o charakterze hydrożelowej membrany z resweratolem jako substancją czynną. Wymagało to wcześniejszego doboru odpowiedniego polimeru [29]. W efekcie wytypowano alkohol poliwinylowy (PVA) jako matrycę hydrożelu. Proces rozpuszczania PVA (5%, 8%, 10%) prowadzono w temperaturze 90°C, stosując mieszkadło ślimakowe. Po ostudzeniu uzupełniano odparowaną ilość wody oraz dodawano glikol propylenowy (10%). Otrzymany hydrożel pozostawiano w temp. pokojowej przez 24 h w celu odpowietrzenia, a następnie stopniowo wprowadzano roztwór resweratrolu przy ciągłym mieszaniu. Gotowe układy poddawano cyklicznemu procesowi zamrażania i rozmrażania, -80°C/+22°C. Wprowadzenie *trans*-resweratrolu do hydrożelowej membrany na bazie PVA skutkowało zmianami właściwości fizykochemicznych zarówno samego roztworu polimeru, jak i gotowego opatrunku. Dodatek resweratrolu w stężeniu 0,35% prowadził do zwiększenia lepkości i przejścia układu z postaci przezroczystego, lepkiego roztworu w półstały, mleczny układ. Analiza porównawcza opatrunku *placebo* oraz z dodatkiem substancji czynnej wykazała, że obecność resweratrolu korzystnie wpływa na właściwości mechaniczne opatrunku. Inkorporowanie resweratrolu do membrany polimerowej skutkowało poprawą wytrzymałości materiału na zerwanie, osiągając wartość najlepszą spośród wszystkich badanych materiałów, w tym produktów handlowych. Równocześnie wykazano, że wprowadzenie *trans*-resweratrolu do opatrunku hydrożelowego stwarza możliwość kontrolowanego uwalniania substancji czynnej w miejscu aplikacji.

Podsumowanie

Pomimo odkrycia resweratrolu blisko 80 lat temu, jest on wciąż przedmiotem wzrastającego zainteresowania. Mała dostępność biologiczna skłania do podejmowania badań mających na celu poprawę dostępności farmaceutycznej i biologicznej. Wskazywane są w piśmiennictwie informacje, że resweratrol może wykazywać działanie ogólne i miejscowe w kilku jednostkach chorobowych,

daje to podstawę do poszukiwania doskonalszych form leku z resweratolem jako substancją czynną. W jednostkach przemysłu farmaceutycznego, kosmetycznego i spożywczego prowadzone są prace nad możliwością wdrożenia produkcji preparatów zawierających ten polifenol.

Otrzymano: 2019.11.19 · Zaakceptowano: 2019.11.29

Piśmiennictwo

- Nunes S, Danesi F, Del Rio D, Silva P. Resveratrol and inflammatory bowel disease: the evidence so far. *Nutr Res Rev.* 2018; 31(1): 85–97. doi: 10.1017/S095442241700021X.
- Takaoka M. Resveratrol, a new phenolic compound, from *Veratrum grandiflorum*. *J. Chem. Soc. Jpn.* 1939; 60: 1090–1100.
- Becker JV, Armstrong GO, van der Merwe MJ, Lambrechts MG, Vivier MA, Pretorius IS. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for the synthesis of the wine-related antioxidant resveratrol. *FEMS Yeast Res.* 2003; 4(1): 79–85. Dostępny w Internecie: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/S1567-1356%2803%2900157-0?sid=nlm%3Apubmed>.
- Beekwilder J, Wolswinkel R, Jonker H, Hall R, de Vos CH, Bovy A. Production of resveratrol in recombinant microorganisms. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72(8): 5670–5672. doi: 10.1128/AEM.00609-06.
- Li M, Schneider K, Kristensen M, Borodina I, Nielsen J. Engineering yeast for high-level production of stilbenoid antioxidants. *Sci Rep.* 2016; 6: 36827. doi: 10.1038/srep36827.
- Lephart ED. Resveratrol, 4'-Acetoxy Resveratrol, R-equol, Racemic Equol or S-equol as Cosmeceuticals to Improve Dermal Health. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(6). pii: E1193. doi: 10.3390/ijms18061193.
- Farris PK. Innovative cosmeceuticals: sirtuin activators and anti-glycation compounds. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* 2011; 30(3): 163–166. doi: 10.1016/j.sder.2011.05.004.
- Boocock DJ, Faust GE, Patel KR, Schinas AM, Brown VA, Ducharme MP, Booth TD, Crowell JA, Perloff M, Gescher AJ, Steward WP, Brenner DE. Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007; 16(6): 1246–1252. doi: 10.1158/1055-9965.
- Cottart CH, Nivet-Antoine V, Laguillier-Morizot C, Beaudeux JL. Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol Nutr Food Res.* 2010; 54(1): 7–16. doi: 10.1002/mnfr.200900437.
- Li TP, Wong WP, Chen LC, Su CY, Chen LG, Liu DZ, Ho HO, Sheu MT. Physical and Pharmacokinetic Characterizations of trans-Resveratrol (t-Resv) Encapsulated with Self-Assembling Lecithin-based Mixed Polymeric Micelles (saLMPMs). *Sci Rep.* 2017; 7(1): 10674. doi: 10.1038/s41598-017-11320-y.
- Sessa M, Balestrieri ML, Ferrari G, Servillo L, Castaldo D, D'Onofrio N, Donsi F, Tsao R. Bioavailability of encapsulated resveratrol into nanoemulsion-based delivery systems. *Food Chem.* 2014 Mar 15; 147: 42–50. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.09.088.
- Neves AR, Lucio M, Martins S, Lima JLC, Reis S. Novel resveratrol nanodelivery systems based on lipid nanoparticles to enhance its oral bioavailability. *International Journal of Nanomedicine* 2013; 8: 177–187. doi: 10.2147/IJN.S37840.
- Penga H, Xiong H, Lic J, Kieb M, Liub Y, Baib Ch, Chen L. Vanillin cross-linked chitosan microspheres for controlled release of resveratrol. *Food Chemistry* 2010; 121: 23–28. Dostępny w Internecie: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.915.2949&rep=rep1&type=pdf>.
- Zu YJ, Overby H, Ren GF, Fan ZY, Zhao L, Wang S. Resveratrol liposomes and lipid nanocarriers: Comparison of characteristics and inducing browning of white adipocytes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2018; 164: 414–423. doi: 10.1126/science.275.5297.218.
- Singh SK, Makadia V, Sharma S, Rashid M, Shahi S, Mishra PR, Wahajuddin M, Gayen JR. Preparation and in-vitro/in-vivo characterization of trans-resveratrol nanocrystals for oral administration. *Drug Deliv Transl Res.* 2017; 7: 395–407. doi: 10.1007/s13346-017-0362-y.
- Calvo-Castro LA, Schiborr C, David F, Ehrh H, Voggel J, Sus N, Behnam D, Bosy-Westphal A, Frank J. The oral bioavailability of trans-resveratrol from a grapevine-shoot extract in healthy humans is significantly increased by micellar solubilization. *Molecular Nutrition & Food Research* 2018; 62(9): e1701057. doi: 10.1002/mnfr.201701057.
- Na JI, Shin JW, Choi HR, Kwon SH, Park KC. Resveratrol as a Multifunctional Topical Hypopigmenting Agent. *International Journal of Molecular Sciences* 2019; 20(4). pii: E956. doi: 10.3390/ijms20040956.
- Docherty JJ, Smith JS, Fu MM, Stoner T, Booth T. Effect of topically applied resveratrol on cutaneous herpes simplex virus infections in hairless mice. *Antiviral Research* 2004; 61(1): 19–26. Dostępny w Internecie: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354203001785?via%3Dihub>.
- Fabbrocini G, Staibano S, De Rosa G, Battimiello V, Fardella N, Iardi G, La Rotonda MI, Longobardi A, Mazzella M, Siano M, Pastore F, De Vita V, Vecchione ML, Ayala F. Resveratrol-containing gel for the treatment of acne vulgaris: a single-blind, vehicle-controlled, pilot study. *Am J Clin Dermatol.* 2011; 12(2):133–41. doi: 10.2166/11530630-000000000-00000.
- Kang MC., Cho K., Lee JH., Subedi L., Yumnam S., Kim SY.: Effect of Resveratrol-Enriched Rice on Skin Inflammation and Pruritus in the NC/Nga Mouse Model of Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2019 Mar 21;20(6). pii: E1428. doi: 10.3390/ijms20061428.
- Kobierski S., Ofori-Kwakye K, Müller RH, Keck CM.: Resveratrol nanosuspensions for dermal application – production, characterization, and physical stability. *Pharmazie.* 2009;64(11):741–7. Dostępny w Internecie: https://pdfs.semanticscholar.org/36be/d0a685d532192e7ce74e8807ae6171aeed94.pdf?_ga=2.102460932.422300368.1574269223-306081647.1574269223.
- Caddeo C, Teskac K, Sinico C, Kristl J. Effect of resveratrol incorporated in liposomes on proliferation and UV-B protection of cells. *Int J Pharm.* 2008; 363(1–2):183–91. doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.07.024. Epub 2008 Jul 31.
- Aziz MH, Afaq F, Ahmad N. Prevention of ultraviolet-B radiation damage by resveratrol in mouse skin is mediated via modulation in survivin. *Photochemistry and Photobiology* 2005; 81(1): 25–31. Dostępny w Internecie: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1751-1097.2005.tb01518.x>.
- Hu Y, Sun CY, Huang J, Hong L, Zhang L, Chu ZB. Antimyeloma effects of resveratrol through inhibition of angiogenesis. *Chin Med J (Engl).* 2007; 120(19): 1672–1677. Dostępny w Internecie: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=17935668>.
- Zhao P, Sui BD, Liu N, Lv Y, Zheng CX, Lu YB, Huang WT, Zhou CH, Chen J, Pang DL, Fei DD, Xuan K, Hu CH, Jin Y. Anti-aging pharmacology in cutaneous wound healing: effects of metformin, resveratrol, and rapamycin by local application. *Aging Cell.* 2017 Oct; 16(5): 1083–1093. doi: 10.1111/acer.12635. Epub 2017 Jul 5.
- Gokce EH, Tuncay Tanrıverdi S, Eroglu I, Tsapis N, Gokce G, Tekmen I, Fattal E, Ozer O. Wound healing effects of collagen-laminin dermal matrix impregnated with resveratrol loaded hyaluronic acid-DPPC microparticles in diabetic rats. *Eur J Pharm Biopharm.* 2017 Oct; 119: 17–27. doi: 10.1016/j.ejpb.2017.04.027. Epub 2017 Apr 28.
- Berce C, Muresan MS, Soritau O, Petrushev B, Tefas L, Rigo I, Ungureanu G, Catoi C, Irimie A, Tomuleasa C. Cutaneous wound healing using polymeric surgical dressings based on chitosan, sodium hyaluronate and resveratrol. A preclinical experimental study. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2018; 163: 155–166. doi: 10.1016/j.col-surf.2017.12.041. Epub 2017 Dec 21.
- Alasmari WA, ElSawy NA, Abourehab MAS, Faruk ME, Alasmari AA. Effect of Topical Resveratrol Formulation on Healing of Experimental Full Thickness Wound in Diabetic Male Albino Rats: (Histological and Immunohistochemical study). s. 2018; *Life Science Journal.* 15(10): 6–20. doi: 10.7537/marslsj151018.02.
- Górska A, Dorożyński P, Węglarz WP, Jasiński K, Kurek M, Jachowicz R, Klaja J, Kulinowski P. Spatiotemporal characterization of hydration process of asymmetric polymeric wound dressings for decubitus ulcers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2018; 106(2): 843–853. doi: 10.1002/jbm.b.33896.